

FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO PURO DE BULBO DE *ALLIUM SATIVUM*-L SOBRE GRAMPOSITIVOS Y GRAMNEGATIVOS

PURE ANTIBACTERIAL FUNCTION EXTRACT *ALLIUM SATIVUM* BULB-L AGAINST GRAM- POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE

ZÓSIMO PEDRO JACHA AYALA, Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad Nacional Hermilio Valdizán, **E-mail:** gmcisantos@hotmail.com

MARIZA DORA CELESTINO LABERIANO, **E-mail:** mcelestino6@hotmail.com

Recibido el 08 de mayo, 2017
Aceptado el 08 de octubre, 2017

ISSN 1994 - 1420 (Versión Impresa)
ISSN 1195 - 445X (Versión Digital)

RESUMEN

Este trabajo tuvo por objetivo evaluar y explicar el efecto antimicrobiano del extracto puro del bulbo de ajo crudo, sobre el crecimiento de las bacterias Gram positivas y Gram negativas en cultivo de agar soja plaqueado e incubando con Petri por 48 horas. Para la determinación de la actividad antibacteriana del extracto puro del ajo se utilizó la técnica de cultivo en agar, inoculando 100 µL de cepas bacterianas independientemente. En los tres ensayos ha mostrado su efectividad, como se evidencian en la evaluación cualitativa observable, gracias al contenido del principio bio-activo de alicina y el ajoeno. Se investigó la actividad antimicrobiana del extracto puro concentrado que contiene aceites esenciales y otras moléculas sulfuradas, sobre bacterias Gram positivas *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis* y otras dos bacterias Gram negativas, como *Echirichia coli* y *Shigella dysinteriae*. El extracto puro del bulbo del *Allium sativum* exhibió significativamente la función bactericida, mostrando alta inhibición. Comparativamente con cualquier antibiótico convencional, superando significativamente, han evidenciado alta actividad inhibitoria para las cuatro bacterias ensayadas. Los resultados del ensayo, la sensibilidad promedio de medida de formación de halo fue de 33.33 mm para las cepas G+, mientras para las cepas G- en la formación de halo de sensibilidad promedio fue de 30.5mm. En conclusión la actividad antibacteriana de sensibilidad del extracto puro de *Allium sativum* mostró, para las cuatro cepas de bacterias, una actividad inhibitoria alta, y así el ajo puede ser considerada y utilizado como aditivos antimicrobianos naturales incorporados en diversas sustancias alimentarios.

Palabras Clave: Función antibacteriana, extracto puro de *Allium sativum*, bio-activos

ABSTRACT

The objective of the work is to evaluate and explain the antimicrobial effect of the pure extract of the raw garlic bulb, on the growth of Gram positive and Gram negative bacteria in plated soy agar culture and incubating with Petri for 48 hours. To determine the antibacterial activity of the pure garlic extract, the agar culture technique was used inoculating 100 µL of bacterial strains independently. In all three trials, it has shown its effectiveness as evidenced by the qualitative evaluation, thanks to the content of the bio-active principle of allicin and ajoene. The antimicrobial activity of concentrated pure extract containing essential oils and other sulfur molecules was investigated on Gram positive bacteria *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus epidermidis* and two other Gram negative bacteria such as *Echirichia coli* and *Shigella dysinteriae*. The pure extract of the bulb of *Allium sativum* exhibited significantly the bactericidal function, showing high inhibition. Compared to any conventional antibiotic, exceeding significantly, they have shown high inhibitory activity for the four bacteria tested. The results of the test the average sensitivity of measurement of halo formation were 33.33 mm for the G + strains, while for the G- strains in the formation of halo of average sensitivity were 30.5mm. In conclusion the sensitivity antibacterial activity of the pure extract of *Allium sativum* showed a high inhibitory activity for the four strains of bacteria and garlic can be considered and used as natural antimicrobial additives incorporated in various food substances.

INTRODUCCIÓN

El ajo común (*Allium sativum*-L) es cultivado en todos los países del mundo, es un vegetal de la familia liliácea de la cebolla (Alliaceae), cebollino, el chalote, el puerro y el ajo elefante. El ajo se distingue de las demás familias por sus hojas planas y el bulbo en forma de cabeza. Cada cabeza bulbo de ajo está conformado por dientes envueltos en una vaina blanca o pupurina que se asemeja a un pergamino¹. En el ambiente hay un equilibrio entre los seres vivos, lo que implica que todos se encuentran en estado de buena salud, lo cual puede llegar a romperse si los microorganismos se convierten en gérmenes patógenos capaces de generar enfermedades (MARCEN, 2000). Empero, según los avances de la medicina, todavía no existen vacunas que permitan contrarrestar muchas enfermedades de gran importancia, por lo que las medidas de higiene y de desinfección, como principios básicos de bioseguridad, son imprescindibles (PAEZ Y OCAMPO, 2005).

La desinfección es el mejor proceso de prevención de las enfermedades contraídas por contacto con secreciones u otras fuentes portadoras de agentes infecciosos. Con agentes químicos o físicos se eliminan a microorganismos patógenos que afectan tanto al ser humano como a la sanidad animal, porque forman parte de programas de medicina preventiva, planes de producción animal, transporte y sacrificio de animales, así como de higiene y producción de alimentos, entre otras (RODRIGUEZ, 2005). Hace 4000 a 5000 años, en Mesopotamia, se utilizaban mezclas de vino, enebro y ciruelos y se inició el uso del jabón. En el antiguo Egipto, los embalsamadores usaban las sales de natrium y resinas aromáticas como antisépticos, y la cebolla como bactericida para el tratamiento de sus momias (MARCÉN, 2000), además de usar vino de palma y vinagre para enjuagar las cavidades abdominales al momento de embalsamar, a fin de mantener los cuerpos. Asimismo, empleaban la técnica de filtración en tela para purificar el jugo de uva (RODRIGUEZ, 2005).

En la historia de la vida humana, los antimicrobianos y la desinfección datan desde hace muchos años. En la antigüedad utilizaban

ciertas sustancias naturales para reducir el contagio de las enfermedades. Su uso se remonta a hace 60 a 70 mil años; desde que el ser humano se desarrolló en la civilización, observó las costumbres de los animales y por necesidades de supervivencia descubrió poco a poco que ciertos vegetales le eran beneficiosos y otros, tóxicos (BARQUERO, 2007). Los orientales (chinos), por su parte, usaban el queso de soja enmohecido para curarse las heridas; posteriormente implementaron la infusión de té verde para combatir las diarreas (MARCÉN, 2000). También usaban derivados del mercurio (Hg) y azufre (S) como desinfectantes y protectores de revestimiento⁴. Los árabes retomaron la práctica del té verde, adicionándole hierbabuena, para potenciar el efecto antimicrobiano. En la India fueron comunes los vendajes con miel y mantequilla para tratar heridas, además fermentaban el té verde para obtener el té negro (MARCÉN, 2000). Los griegos y romanos también hicieron sus primeros aportes en el campo de la medicina. Hipócrates hacía uso de miel y sal para tratar las heridas, así como del tomillo y vinagre como antisépticos; y del vino y de la canela, como antimicrobianos.

El pensamiento de uso de la extracción pura de vegetales, como medicamentos, surge en 1803, con el aislamiento de alcaloides (Friedrich Serturmer). A partir de eso se desarrollaron varias investigaciones, como las de Pelletier y Caventou en 1819, quienes aislaron alcaloides de corteza. Merck, en 1826, obtiene la morfina a partir del opio, y en 1831 se consigue la atropina de la *Atropa belladonna*-L⁵. En el transcurso histórico de la vida, se ha logrado tener información valiosa sobre las propiedades farmacológicas de diversas especies vegetales; en el presente siglo se cuenta con técnicas y procedimientos instrumentales de identificación, determinación, extracción y purificación de componentes químicos. Sin embargo, el mal uso y la mala dosificación de dichas sustancias, tanto en humanos cuanto en animales y el total desconocimiento de la sensibilidad de los gérmenes característicos, ha derivado en el aumento de la resistividad bacteriana, ocasionando graves implicancias sociales de salud y pérdidas económicas⁶.

La sabiduría popular menciona la existencia de

sustancias vegetales y alimentos que poseen propiedades desinfectantes y antisépticas, como el agua, la sal, los componentes bioactivos, los alimentos naturales convertidos (lácteos, encurtidos, oleáceas, etc.) y no convertidos (ajo, cebolla, puerro, zanahorias, cítricos entre otros), condimentos, especias, vegetales aromáticos, árboles y arbustos, a pesar de conocerse poco sobre la composición química de las sustancias antimicrobianas de vegetales y especias, sabiendo que las propiedades bioactivas para los microorganismos se encuentran en sus aceites esenciales como mezcla de diferentes componentes volátiles (GARCÍA y HERRERA, 2007). El ajo es un vegetal que se conoce desde hace más de 3 000 años a.C. cuyo cultivo se remonta a los tiempos babilónicos⁷. El *Allium sativum*-L es un vegetal originario de Asia, de donde pasó al resto de Europa y América. Por la forma de sus hojas es una planta lanza, de raíz bulbosa conformada por varios bulbillos denominados dientes. Su cultivo es rápido y sencillo, en clima templado, y florece en primavera y verano (GANADO, 2001).

Actualmente no se usan muchos de los desinfectantes que fueron usados en el siglo pasado, debido a la creciente conciencia ecológica; se buscan desinfectantes con buenos resultados germicidas que no produzcan ningún tipo de problemas en la salud humana y que sean de bajo impacto ambiental, por lo que se opta por utilizar desinfectantes biodegradables, muchos de los cuales son obtenidos de sustancias naturales. Es por ello que a la par del conocimiento de los fármacos generados de vegetales que se comercializan con la farmacéutica, se sabe de un mercado alterno dedicado a la difusión y venta de vegetales como medicina natural o suplemento dietético. El uso de dichos vegetales es común para zonas donde no se cuenta con suficiente recursos; la población se siente cada vez más interesada en este tipo de terapias alternativas⁷.

En Sudamérica, particularmente en el Perú, son cultivadas de diversas variedades, en valles de la Costa y en los valles interandinos. El *Allium sativum* es una especie ampliamente utilizada tanto por sus atributos culinarios cuanto por sus propiedades medicinales. En América del Norte, Central y Sudamérica, el cultivo del ajo

se ha popularizado en los años recientes, debido al conocimiento de sus bondades y de muchos beneficios que su consumo proporciona a la salud humana. Este vegetal cultivado es estéril que solo se propaga asexualmente (RABINOWITCH Y KAMENETSKY, 2004). En el mundo, el apreciado pool genético de la especie se encuentra amenazado por la rápida sustitución de los clones tradicionales por cultivadores modernos del grupo *Sativum* (KAMENETSKY et al., 2005). Su germoplasma se conserva mediante colecciones de campo o por procedimientos biotecnológicos. Los clones podrían ser identificados para adaptarlos y producirlos localmente, caracterizados para realizar procedimientos de selección².

El ajo es uno de los vegetales comestibles de interés en todo la historia del hombre, considerado como un medicamento panacea. Una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos, protozoos han demostrado ser sensibles a los preparativos con ajos triturado o aplastado. Además, por los investigadores el *Allium sativum* ha sido reportado como causante de reducir los lípidos sanguíneos y de poseer efectos anticancerígenos, debido a que los dientes de ajo han puesto de manifiesto una inusual concentración de moléculas azufradas, como componentes químicos que fueron determinados mediante el análisis químico. La identificación de componentes volátiles, a través del análisis de las destilaciones de vapor de dientes de *Allium sativum* machacados, se realizó hace más de un siglo, mostrando una variedad de sustancias moleculares de alilo sulfurados. Empero, no fue hasta 1944 que el Cavallito y sus colegas lo aislaron, identificando el componente responsable de la actividad antibacteriana de los dientes del bulbo de ajo⁸.

Las moléculas principales presentes como componentes bioactivos del *Allium sativum* están la alicina, la aliína, ajoeno, allyl sulfonato, los sulfóxidos, como S-metil-L-cisteína, S-propenil-cisteína, S-glutathión, g-glutamyl-S-allyl-cisteína y g-glutamyl-S-allyl-mercapto-L-cisteína (aminoácidos azufrados), aliína, aliína. Cuando los bulbos de ajo se almacenan a baja temperatura, la aliína se mantiene inalterable, mientras que el tejido celular permanece

intacto, pero cuando el bulbo o los bulbillos del ajo son machacados o triturados, la aliína se activa y se transforma en alicina y otras sustancias azufradas (tiosulfatos) por acción de la propia enzima aliinasa. Estas últimas son moléculas muy inestables y se convierten con extrema rapidez en otros compuestos organosulfurados, como sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo (mayoritarios en aceites esenciales del ajo), trisulfuro de dialilo y ajoenos, todos ellos solubles en medio oleoso³.

Las enfermedades transmitidas por la ingesta de los alimentos suponen una importante carga para la buena salud. Millones de personas se enferman y muchas mueren, por consumir alimentos infestados y contaminados. Los estados miembros de la OMS seriamente preocupados, adoptaron en el año 2000 una decisión resolutive en la cual se reconoce la función fundamental de la inocuidad alimentaria para la salud pública.

La seguridad microbiológica de los alimentos es de vital importancia para la preparación y elaboración alimentaria, no solo por sus efectos directos sobre el tiempo de vida útil de un alimento, sino por sus implicancias en la salud pública (GEORGALA, 1992). Uno de los principales riesgos es la transmisión al hombre de microorganismos patógenos, a través del consumo de los alimentos. Entre las bacterias más frecuentemente implicadas y conocidas, Gram positivas y Gram negativas tenemos *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, etc., reconocidos como microorganismos patógenos de importancia en la salud pública (HOLANDA, et al., 2005).

Los aceites esenciales, se tiene los extractos de vegetales, conteniendo diversas sustancias volátiles, entre ellos los alcoholes, cetonas, esteres fenólicos, fenoles, ácidos orgánicos, así como los terpenoides y derivados sulfurados; entre los más utilizados y estudiados es el *Allium sativum* que contiene componentes bioactivos químicos (alicina, ajoeno, alostatina, aliinasa) comprobados por su acción y efecto antibacteriano (HUNTER, et al, 2005; LEDESMA & APITZ CASTRO, 2006). Los componentes del ajo implicados en la actividad antimicrobiana son moléculas químicas. Los antimicrobianos o conservadores naturales

pueden tener tres tipos de acción sobre los microorganismos: inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o de la pared celular; daño a la integridad de las membranas biológicas celulares; interferencia con la gran variedad de procesos metabólicos esenciales en dichos organismos^{3,4}.

La utilidad de los principios activos de vegetales medicinales brinda diversas ventajas en el tratamiento antimicrobiano, facilitando el acceso a sustancias con bajo costo. Los antimicrobianos y desinfectantes que garantizan la sanidad de la salud, muchas veces no están al alcance de las mayorías y es de difícil acceso. Según la OMS, un desinfectante es aquel agente capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo o de eliminarlo, siempre que no se trate de una bacteria en su fase esporulada; empero, un desinfectante no siempre conlleva a la eliminación de microorganismos de una superficie, pero sí los reduce a cantidades mínimas que no dañan la salud (OMS, 2004). La resistencia adquirida a la exposición de los antibióticos por algunas bacterias, es un problema en el campo de la medicina.

A pesar que Gram positivas y Gram negativas son susceptibles a sustancias antimicrobianas, varias entero-bacterias han desarrollado resistencia⁹. Algunas bacterias, como *Escherichia coli* o *Helicobacter pylori*, han llegado a causar enfermedades no controlables en zonas afectadas, por lo que es necesario probar nuevos agentes bacterianos cuyos efectos de duración sean óptimos. Por esta razón se inició el uso de las esencias, extractos de los vegetales que proporcionan una respuesta a la resistencia bacteriana (RAHMAN, et al., 2011).

Por lo manifestado, se formuló el trabajo de investigación con la finalidad de evaluar la capacidad bactericida o antimicrobiana del extracto puro del *Allium sativum*-L, que se encuentra fácilmente en el mercado, que resulta ser un desinfectante más viable y económico, que se utiliza en áreas insalubres, como inhibidor de microorganismos.



Ajos en plantación



Ajos cosechado



Halo después del cultivo

METODOLOGÍA Y MATERIALES

El estudio fue observacional explicativo, en el cual se evaluó la actividad antibacteriana del extracto puro del bulbo de ajo, sobre cepas bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se inició el proceso de preparado del extracto, previa asepsia de los materiales y equipos, utilizando y aplicando la disolución de hipoclorito de sodio, consecutivamente a la

extractora de marca IMACO, nueva. Se quitó la capa o envoltura de los dientes del bulbo del *Allium sativum*-L; aproximadamente se preparó 250 gramos, el cual se llevó a la extractora en su totalidad, obteniéndose el jugo o extracto puro del ajo en un volumen de 200 ml aproximadamente. En la extractora se logró la ruptura de mayor cantidad de células del tejido vegetal, con la finalidad de liberar los componentes bioactivos principales por acción de su propia enzima presente, la alinasa.

Posteriormente se tamizó con gasa, para tener el extracto puro del ajo, que fue almacenado en un frasco ámbar limpio de 250 ml de capacidad, con tapa esmerilada. Las cepas bacterianas para la prueba fueron: *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*, seleccionadas de las colonias del cepario del Instituto Nacional de Salud Pública. De la misma forma, se preparó el agar nutritivo de soja, para ser mezclado con cada una de las bacterias, utilizando tubos Mac Farland. Una vez mezclados los 100 µL de cada una de las bacterias con 25 ml de medio de cultivo agar nutritivo de soja, se depositaron en cajas Petri, para su respectiva siembra.

Una vez solidificado el medio de cultivo a temperatura ambiente, se prepararon los pocitos, en los cuales se depositaron los 100 µL de extracto puro de ajo en cada pocito, para ser incubados por 48 horas a 37 °C. Finalmente se evaluó la actividad inhibitoria por la formación de halos en cada caso.

RESULTADOS

Los ensayos experimentales de bacterias Gram positivas y Gram negativas fueron expuestos ante los principios activos del extracto puro o concentrado de *Allium sativum*-L. La reducción efectiva ha mostrado qué contra cualquier grupo de microorganismos. El ajo ejerce una inhibición de reducción diferencial entre microflora intestinal y enterobacterias potencialmente nocivas. La inhibición observada en *E. coli* como en las demás muestras fue más de 10 veces mayor que la observada en *Lactobacillus casei* para la misma concentración del extracto puro del ajo. La acción letal inhibitoria antibacteriana del *Allium sativum* está atribuida al componente bioactivo químico de la alicina y ajoeno,

principalmente. Diversos estudios sobre propiedades bioactivas del ajo han reportado como antimicrobianos y desinfectantes que muestran los efectos inhibitorios letales que reducen el crecimiento de los microorganismos. Ver la tabla 1.

Tabla 1. Efecto letal bactericida del extracto puro de <i>Allium sativum</i> expuesto sobre <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Escherichia coli</i>				
GRUPO concentrado de ajo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
No inhibición				
Inhibición parcial	Total	total		
Inhibición total	+++	+++	++ +	++ +
Diámetro de formación de halo inhibitorio (mm)	31,3	32,5	32,6	33,3

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha observado que las concentraciones bacterianas de Gram-positivas y Gram-negativas en 100µL de caldo de cultivo empleadas, presentaron resultados consistentes y significativos a las acciones de dosis letal expuesta del extracto puro de *Allium sativum*. Sin las enormes variaciones en los resultados reportados en estudios similares con anterioridad según (TILTON et al, 1973; STECCHIN et al., 1993; HERRERA y GARCÍA-RICO, 2006). Sin embargo, en los datos obtenidos para el efecto del extracto puro de ajo sobre *Staphylococcus epidermidis*, se evidencia una diferencia significativa en los dos ensayos con ambas concentraciones bacterianas iniciales. Para el caso, se observa un mayor efecto antibacteriano en la menor concentración, lo cual es lógico si se tiene en cuenta en muchas ocasiones que el impacto del compuesto activo se ve atenuado por la cantidad de bacterias o microorganismos objeto de tal efecto (ERICSSON y SHERRIS, 1971). Estas formas diferenciadas son las que se pretende comparar cuando se aplica extracto con concentraciones diluidas y variando el tamaño de inóculo bacteriano. En el presente estudio, el efecto inhibitorio del

crecimiento de las bacterias *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* y de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, expuesto sobre el extracto puro de ajo, fue observado un efecto sinérgico y muy bien diferenciado conforme a las especies bacterianas. Teóricamente, el omeprazol puede tener un mecanismo similar para su actividad antibacteriana, así como el efecto letal del extracto puro de ajo.

CONCLUSIONES

El extracto puro del bulbo de *Allium sativum* ensayado y expuesto sobre cepas bacterianas Grampositivas y Gramnegativas, presentó un mayor efecto bactericida. Ilustrándose los halos de inhibición de mayor tamaño, como se muestra en las figuras 1 y 2, con amplio espectro de acción eficiente, puesto que mostró un efecto desinfectante inhibitorio del crecimiento en las cuatro cepas bacterianas ensayadas. Se logró una actividad antimicrobiana del extracto de ajo, con originalidad en los resultados de estudio como consecuencia de la exposición mostrada de la inhibición, formando halos mayores que justifican la actividad antibacteriana, ante las cuatro cepas bacterianas mostradas en el presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SSUSMANN OA, MATTOS, L RESTREPO, A. S/F Resistencia bacteriana. Disponible en <http://www.edu.365,cat/aulanet/comsoc.Bioquímica>.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALVAREZ – PARRILLA. 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de disponibles en: <http://www.ciad.mk/dtopu/XI>.
2. Alba Luna Geller ,Luz ;Lara Acevedo Guillermo. Aleopatía y extractos vegetales: alternativa para el manejo de insectos, plagas y enfermedades en cultivos
3. BOTANICAL-ON LINE SL."Propiedades del Ajo". [Página web].Disponible en la web: <http://www.botanical-online.com/medicinalsalliumsativum.htm>.
4. DOMINGO D. LÓPEZ-BREA M. 2003. Plantas con acciones antimicrobianas. Revista Española de Quimioterapia.16 (4),

- 385 – 393.
5. DOMINGO D. LÓPEZ-BREA M. 2003. Plantas con acciones antimicrobianas. *Revista Española de Quimioterapia*.16 (4), 385 – 393.
 6. ISMAIEL, A. y PIERSON, M.D.1990.Inhibitory effects of ápicos on growth and toxin production of toxigenic *Appl. Environ. Microbial*. 39:818-822.
 7. HERNANDEZ, P.L. C. 2003. Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo *E. coli* y *L. innocua*. Tesis de licenciatura. Universidad de las Americas.
 8. HOLANDA ML, et al., 2005. Defferential activity of a lictin from *soliecia filiformis* against human pathogenic bacteria. *Braz J Med. Boil Res*. 1769 – 1773.
 9. PIQUIN, E.; ACOSTA, M. E; et al. Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de ajo frente a *Eschirichia coli*. Disponible. URF: <http://eprints.natura.unsa.edu>.
 10. REQUEJO, D .I.T, JAUREGUI, G.B. 2015. Efecto de la concentración mínima letal de extracto de ajo sobre el crecimiento de *listeria monocytogenes*. FGB01-UNT. En queso fresco en almacenamiento refrigerado. *Científi-k*, 1(2), 55 – 63.
 11. TRUJILLO H. A. RODRIGUEZ VIERA R. HERNANDEZ LÓPEZ, A. 2004.Ajo: consideraciones sobre sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. *Medicacentro*. Disponible en: <http://www.medicentro.dd.cu/index.ph/medicentro>.
 12. SSUSMANN OA, MATTOS, L RESTREPO, A. S/F Resistencia bacteriana. Disponible en <http://www.edu.365,cat/aulanet/comsoc>. Bioquímica.
 13. Zhou YL, Cheng ZH; Meng HW."Allelopathy of garlic root exudates on different receiver vegetables".[paper científico].Disponible en la web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17396504>.